

**ISOLASI DAN *SCREENING* BAKTERI PROTEOLITIK
TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS DANAU
SEGARA ANAK, TAMAN NASIONAL GUNUNG RINJANI**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

Windha Ika Maylani

NIM. M0413046

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN

SKRIPSI

Isolasi dan *Screening* Bakteri Proteolitik Termofilik Dari Sumber Air Panas Danau Segara Anak, Taman Nasional Gunung Rinjani

Oleh:

Windha Ika Maylani
NIM. M0413046

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 21 Desember 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

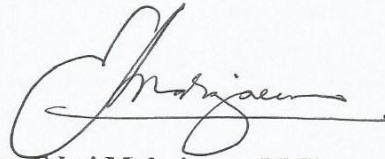
Surakarta, 12 Januari 2018

Penguji I



Dr. Artini Pangastuti, M.Si.
NIP. 19750531 200003 2 001

Penguji II



Dr. Edwi Mahajoeno, M.Si.
NIP. 19601025 199702 1 001

Penguji III / Pembimbing I



Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech.
NIP. 19760812 200501 2 001

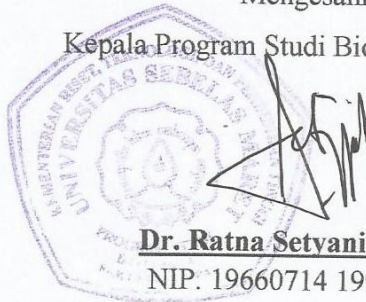
Penguji IV / Pembimbing II



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Mengesahkan,

Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS



Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.

Suakarta, 21 Desember 2017



Windha Ika Maylani
Windha Ika Maylani
NIM. M0413046

ISOLASI DAN SCREENING BAKTERI PROTEOLITIK TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS DANAU SEGARA ANAK, TAMAN NASIONAL GUNUNG RINJANI

Windha Ika Maylani

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

ABSTRAK

Mikroorganisme termofilik mampu menghasilkan enzim yang bersifat termostabil yaitu mempunyai aktivitas dengan ketahanan yang baik bila bekerja pada suhu yang relatif tinggi. Kondisi ini menguntungkan bila digunakan untuk proses industri yang memerlukan suhu tinggi. Protease dari mikroorganisme termofilik saat ini menjadi pusat perhatian terutama dalam industri pangan. Tujuan dari penelitian ini yaitu mendapatkan isolat bakteri termofilik penghasil protease dan mengetahui spesies bakteri termofilik penghasil protease yang diisolasi dari sumber air panas Danau Segara Anak.

Salah satu kawasan yang berpotensi menjadi habitat bakteri termofilik yaitu sumber air panas Danau Segara Anak, Taman Nasional Gunung Rinjani. Air panas Danau Segara Anak dicampurkan dengan media *enrichment* susu skim cair. Hasil campuran dipindahkan ke media Susu Skim Agar (SMA) menggunakan metode *spread plate* dan diinkubasi pada suhu 55°C. Sebanyak 5 isolat berhasil diisolasi dan kemudian dilakukan skrining bakteri dengan metode totol untuk mengetahui adanya aktivitas proteolitik dengan ditandai zona bening di sekeliling koloni bakteri. Pengukuran pertumbuhan koloni dan zona bening bakteri dilakukan setelah inkubasi 48 jam.

Hasil penelitian didapat 3 isolat yang memiliki aktivitas proteolitik yaitu SPM 1, SPM 2, dan SPM 4 dengan indeks proteolitik 1,23; 4,31; 1,21. Berdasarkan identifikasi molekuler gen penyandi 16S rRNA, menunjukkan bahwa isolat yang didapat yaitu spesies *Bacillus paralicheniformis* SPM1, *Anoxybacillus caldiproteolyticus* SPM4 dan genus *Bacillus* yang memiliki kemiripan dengan *Bacillus licheniformis* strain L43 sebesar 96%.

Kata Kunci : Sumber air panas, mikroorganisme termofilik, enzim protease termofilik.

ISOLATION AND SCREENING OF PROTEOLYTIC THERMOPHILIC BACTERIA FROM HOT SPRINGS OF SEGARA ANAK LAKE, NATIONAL PARK OF MOUNT RINJANI

Windha Ika Maylani

Biology Department, Faculty of Mathematics and Science,
Sebelas Maret University, Surakarta.

ABSTRACT

Thermophilic microorganisms are able to produce thermostable enzymes that can act resistantly at relatively high temperatures. This condition is advantageous when used in an industrial process that mostly involves heat temperature. Currently, the food industry focus on using the proteases from thermophilic microorganism. The aim of the research are to get thermophilic bacteria isolates that produce proteases and to know bacterial species that produce proteases from hot springs of Segara Anak Lake.

One of the potent area to be the habitat of thermophilic bacteria is Hot Springs of Segara Anak Lake, National Park of Mount Rinjani. The hot water of Segara Anak Lake were mixed with enrichment liquid skim milk medium. The mixed result were transferred to medium of Skim Milk Agar (SMA) using spread plate method and incubated at 55°C. There were 5 isolates as the result and continued by screening using spot method to observe the proteolytic activity that shown by the formation of a clear zone around the bacterial colony. Measurements of a clear zone around were conducted after incubation for 48 hours.

The result of this research showed there were 3 isolates which have proteolytic activity, they were SPM 1, SPM 2, and SPM 4 with proteolytic index 1.23; 4.31; 1.21. Based on the molecular identification of the encoding gene of 16S rRNA, it showed that the isolates obtained were *Bacillus paralicheniformis* SPM1, *Anoxybacillus caldiproteolyticus* SPM4 and the *Bacillus* genus that has similarities with *Bacillus licheniformis* strain L43 of 96%.

Keywords : Hot springs, thermophilic microorganisms, thermophilic protease enzymes.

MOTTO

“Awali semua dengan bismillahirrohmaanirrohim dan alhamdulillah setelahnya”

“Smiling has always been easier than explaining why you are sad”

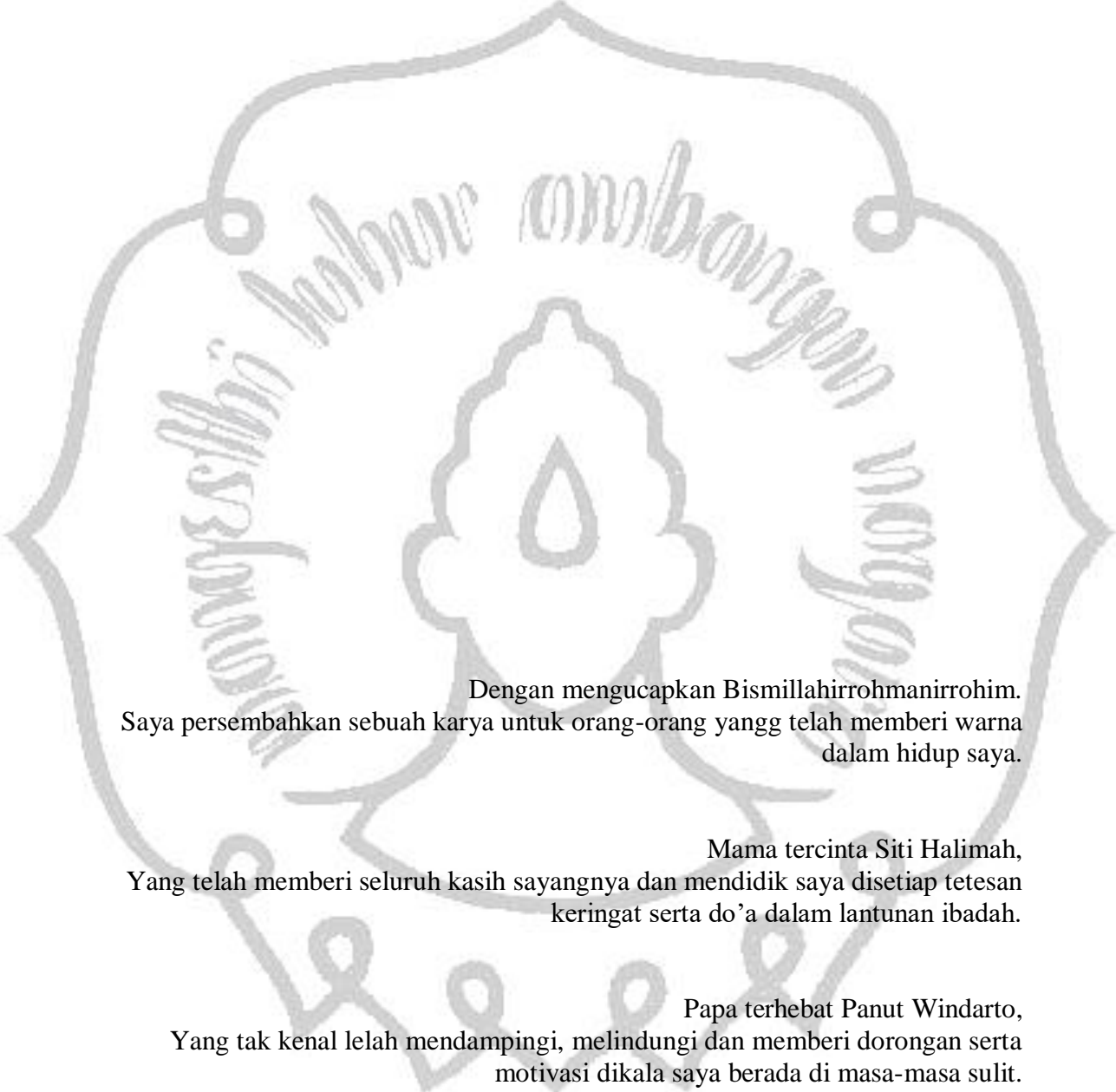
“Selalu ada harapan untuk mereka yang berdoa, selalu ada jalan bagi mereka yang ingin berusaha”

“Belajarliah mengalah sampai tak ada seorangpun yang mengalahkanmu, belajarliah merendah sampai tak ada seorangpun yang merendahkanmu” Gobind Vashdev

“Hidup itu seperti bersepeda, agar tetap seimbang kau harus tetap bergerak” Albert Einstein

“Intinya, bagaimana sembahyang itu bisa mendorong seluruh hatimu untuk menolong orang lain. Itulah inti pergi ke masjid, gereja, wihara, kuil dan sebagainya” Sujiwo Tejo

PERSEMBAHAN



Dengan mengucapkan Bismillahirrohmanirrohim.
Saya persembahkan sebuah karya untuk orang-orang yang telah memberi warna
dalam hidup saya.

Mama tercinta Siti Halimah,
Yang telah memberi seluruh kasih sayangnya dan mendidik saya disetiap tetesan
keringat serta do'a dalam lantunan ibadah.

Papa terhebat Panut Windarto,
Yang tak kenal lelah mendampingi, melindungi dan memberi dorongan serta
motivasi dikala saya berada di masa-masa sulit.

Adik-adik tersayang Agustian Hary Hartanto dan Benny Dewantoro,
Yang selalu memberi semangat dan senyuman dikala saya sedih.

Almamater, Universitas Sebelas Maret.

KATA PENGANTAR

Assalamualaykum Wr. Wb

Salam sejahtera bagi kita semua

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul: “Isolasi dan *Screening* Bakteri Proteolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Danau Segara Anak, Taman Nasional Gunung Rinjani” Penyusunan skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat berguna dan bermanfaat baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan yang baik ini dengan berbesar hati penulis ingin mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya dan sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc (Hons), P.hD. Selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret yang begitu inspiratif memotivasi penulis serta atas ijin penelitian yang telah diberikan kepada penulis untuk keperluan dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. Selaku Kepala Jurusan Biologi FMIPA UNS sekaligus Dosen Pembimbing II penulis yang memberi semangat serta bimbingan kepada penulis selama kuliah dan dalam menyelesaikan penelitian skripsi.
3. Ibu Siti Lusi Arum Sari, M.Biotech. Selaku Dosen Pembimbing I penulis yang dengan sabar memberi bimbingan dan semangat bagi penulis dari awal hingga akhir dalam menyelesaikan penelitian skripsi.
4. Ibu Dr. Artini Pangastuti, M.Si dan Bapak Dr. Edwi Mahajoeno, M.Si. Selaku Dosen Penguji yang telah memberi bimbingan dan saran dalam penulisan skripsi.

5. Bapak Ari Pitoyo, M.Sc. Selaku dosen bimbingan akademik serta dosen-dosen di Jurusan Biologi yang telah dengan sabar memberikan pengarahan yang tiada henti-hentinya dan dorongan baik spiritual maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Staff Laboratorium Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah mengijinkan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian di laboratorium.
7. Sahabat-sahabat saya *Tenebrio molitor* (Nieko, Anang, Aulia, Elva, Melin, Jihad, Hendra) yang selalu memberi saya canda dan tawa selama kuliah di jurusan Biologi dan semangat serta motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat-sahabat Amoeba 2013 yang memberi semangat dan motivasi dalam menyelesaikan naskah skripsi.
9. Keluarga Besar KSR PMI Unit UNS yang selalu menjadi rumah kedua saya ketika lelah dan memberikan banyak pelajaran serta pegalaman.
10. Teman-teman KKN Banyuwangi yang memotivasi saya untuk terus belajar dan bermanfaat bagi orang lain.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuannya.

Dengan kerendahan hati penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan yang berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua dan pihak-pihak yang terkait.

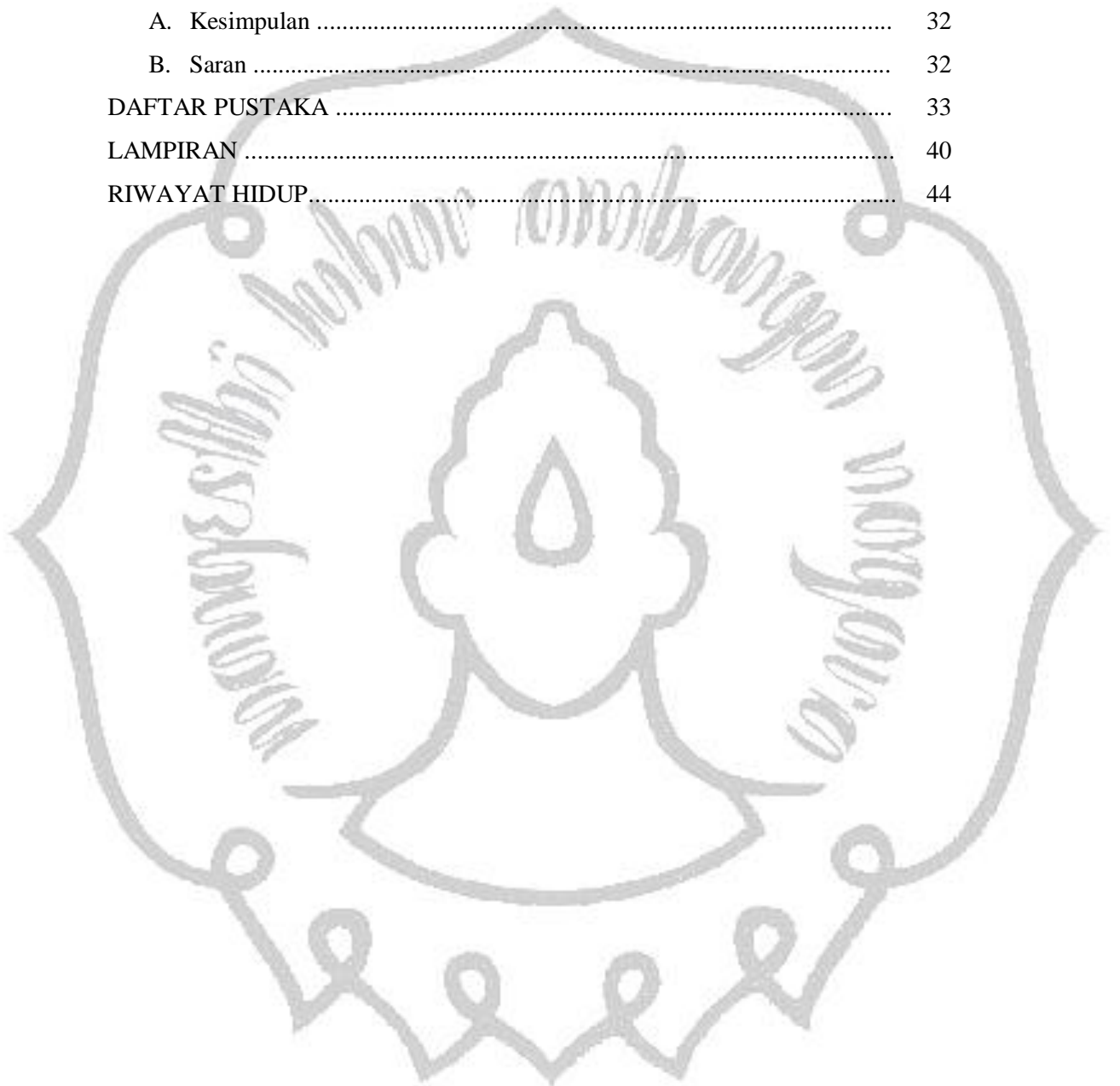
Surakarta, 21 Desember 2017

Penyusun

DAFTAR ISI

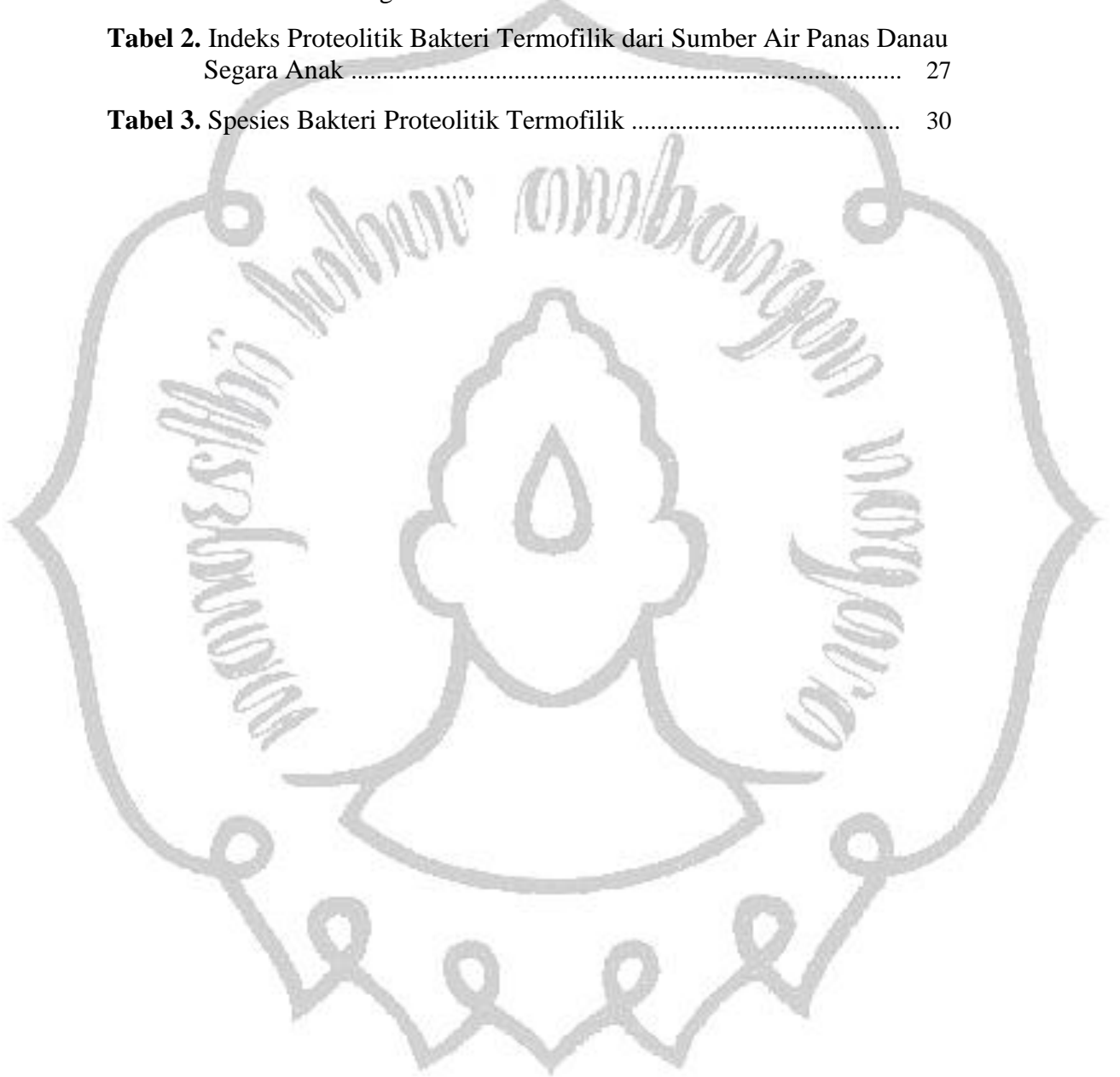
	halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTACT	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II LANDASAN TEORI	5
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Mikroorganisme Termofilik	5
2. Habitat Mikroorganisme Termofilik	7
3. Adaptasi Mikroorganisme Termofilik	8
4. Pola Pertumbuhan Mikroorganisme	9
5. Enzim Termostabil	12
6. Enzim Proteolitik/Protease	13
7. Danau Segara Anak, Gunung Rinjani	15
B. Kerangka Pemikiran	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
A. Waktu dan Tempat Penelitian	20
B. Bahan dan Alat	20
C. Cara Kerja	21
D. Analisis Data	23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
A. Isolat Bakteri Proteolitik Termofilik	24
B. Identitas Bakteri Proteolitik Termofilik berdasarkan Sekuens Gen Penyandi 16S rRNA	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
A. Kesimpulan	32
B. Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	40
RIWAYAT HIDUP	44



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakter Makroskopis dan Mikroskopis 5 Isolat Bakteri dari Sumber Air Panas Danau Segara Anak	25
Tabel 2. Indeks Proteolitik Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Danau Segara Anak	27
Tabel 3. Spesies Bakteri Proteolitik Termofilik	30



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Suhu Pertumbuhan Mikroorganisme	5
Gambar 2. Fase Pertumbuhan Mikroorganisme	11
Gambar 3. Danau Segara Anak, Gunung Rinjani	16
Gambar 4. Sumber Air Panas Pada Bagian Lembah Gunung Rinjani	17
Gambar 5. Kerangka Pemikiran	19
Gambar 6. Isolat Bakteri Proteolitik pada Media Minimum yang Mengandung Susu Skim	24
Gambar 7. Isolat SPM 1 (A), SPM 2 (B), SPM 4 (C) pada Media SMA yang Memiliki Zona Bening Usia 48 Jam, Inkubasi pada Suhu 55°C. Zona Bening Menunjukkan Adanya Aktivitas Proteolitik	26
Gambar 8. Hasil Amplifikasi DNA Memiliki Ukuran antara 1.000-1.500 bp. M: Marker	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Isolasi Bakteri Proteolitik Termofilik pada Media Susu Skim Agar (SMA)	40
Lampiran 2. Hasil Dokumentasi Makroskopis pada Media Nutrien Agar (NA)	40
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Tiga Isolat Bakteri Proteolitik Termofilik Gen Penyandi 16S rRNA	41

